



# **Papilomavírus humano em neoplasias do colo do útero e da cabeça e pescoço**

A realidade em Portugal

**MARIA DE FÁTIMA ALMEIDA SILVA HIERRO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2017



Orientador

**Doutora Ana Filipa Martins Ferreira Castro**

*The one exclusive sign of thorough knowledge is the power of teaching.*

Aristotle (384 ac-322 ac)



Dissertação elaborada no âmbito do Mestrado Integrado em Medicina

**Título:** Papilomavirus humano em neoplasias do colo do útero e da cabeça e do pescoço

**Autor:** Maria de Fátima Almeida Silva Hierro<sup>1</sup>

**Orientadora:** Dra. Ana Filipa Martins Ferreira Castro<sup>2</sup>

**Afiliação:** Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto; Centro Hospitalar do Porto, CHP

<sup>1</sup> – Aluna do 6º ano profissionalizante do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto; número de aluno: 200004503

Endereço eletrónico: mfati\_as@sapo.pt

<sup>2</sup> – Assistente Hospitalar de Oncologia Médica do Centro Hospitalar do Porto – Hospital de Santo António; Professora Assistente no Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar

Endereço eletrónico: anafmferreira@yahoo.com



## AGRADECIMENTOS

Ao Alberto, meu marido e derradeiro amigo, razão de existir, de prosseguir e de manter esperança.

Aos meus pais, por acreditarem, por persistirem e manterem o seu apoio independentemente do percurso, da loucura ou da incerteza.

À Dra. Ana Castro, Professora, inspiração, modelo de vida.

Aos meus filhos, Laura Francisca e José Alberto, por me ensinarem a ser. Por abdicarem do tempo deles por direito, para eu o transformar em algo novo, que não entendem e mesmo assim aceitam. Por me ensinarem disciplina e flexibilidade, rigor e doçura, a amar sem esperar nada em troca e receber tudo.

*Start by doing what's necessary;  
then do what's possible;  
and suddenly you are doing the impossible.*  
Francis of Assisi (1182-1226)





## ÍNDICE

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| Abstract.....                   | 1  |
| Resumo.....                     | 2  |
| Introdução.....                 | 3  |
| Métodos.....                    | 6  |
| Resultados.....                 | 6  |
| Discussão.....                  | 8  |
| Referências bibliográficas..... | 19 |

## ABSTRACT

The role of human papillomavirus (HPV) in the etiology of cervical squamous cell carcinoma is well established. Several industrialized countries have vaccination programs in place, including Portugal. Globally HPV genotypes 16 and HPV 18 are responsible for most of these cancers, which led to the current vaccination program implemented in Portugal. There is increasing evidence of the role of these viruses in a subgroup of head and neck cancers.

In order to assess which epidemiological data are available, for the Portuguese population, regarding the involvement of these viruses in cervical and head and neck cancers, a systematic review of articles published in peer-reviewed journals was performed. Thirty papers were included in the review.

Several prevalence studies, regarding the population residing in continental Portugal, have shown that the most prevalent genotype is HPV 16, with the exception of a study in young women from the north of the country, where HPV 31 was most prevalent. In the Azores the only available paper also finds HPV 31 as the most prevalent genotype.

The second most frequent genotype depends on the subpopulation studied. HPV 31, 33, 45 and 51 genotypes, for which the bivalent vaccine provides cross-protection, are often described among the most prevalent in Portugal. HPV 18 was the second most prevalent in a single study that used samples taken in the early 90's.

In the present study we found that there is no epidemiological data on the involvement of HPV in head and neck cancer, which is essential to adjust and evaluate the impact of vaccination programs.

Keywords: human papillomavirus, HPV, cervical cancer, head and neck cancer, epidemiology.

## RESUMO

O papel do papilomavírus humano (HPV) na etiologia do carcinoma espinocelular do colo uterino está bem estabelecido, tendo sido implementados programas vacinais em vários países industrializados, entre os quais Portugal. A nível global os genótipos HPV 16 e HPV 18 são responsáveis pela maioria destas neoplasias, estando nestes dados baseado o programa vacinal português. Tem vindo a ser acumulada evidência do papel destes vírus na etiologia de um subgrupo de carcinomas da cabeça e pescoço.

Com o objectivo de aferir quais os dados epidemiológicos disponíveis para Portugal relativamente ao envolvimento destes vírus em neoplasias do colo uterino e da cabeça e do pescoço, foi realizada uma revisão sistemática de artigos publicados em revistas indexadas. Foram incluídos para revisão 30 artigos.

Verificou-se nos vários estudos de prevalência em Portugal continental que o genótipo mais prevalente é o HPV 16, com a exceção de um estudo em mulheres jovens no Norte do país onde foi mais prevalente o HPV 31. Nas ilhas dos Açores este lugar é ocupado pelo HPV 31 no único estudo disponível nesta data. Os genótipos mais frequentes em segundo lugar dependem da subpopulação estudada, incluindo os HPV 31, 33, 45 e 51, os genótipos para os quais a vacina bivalente oferece proteção cruzada. O HPV 18 foi o segundo mais prevalente num único estudo que usou amostras colhidas no início dos anos 90.

No presente estudo verificamos que não existem dados epidemiológicos relativos ao envolvimento do HPV em neoplasias da cabeça e do pescoço, imprescindíveis para ajustar e avaliar o impacto dos programas vacinais.

Palavras-chave: papilomavírus humano, HPV, cancro do colo do útero, cancro da cabeça e pescoço, epidemiologia.

## INTRODUÇÃO

A maioria dos carcinomas espinocelulares do colo uterino são consequência da infecção por papilomavírus humanos (HPV-human papillomavirus) (zur Hausen, 1994, zur Hausen e de Villiers, 1994). No entanto, o seu papel no desenvolvimento de lesões orais, como carcinoma espinocelular ainda está em estudo com resultados contraditórios (Syrjänen e Syrjänen, 2000, Adelstein *et al.*, 2009).

A família dos papilomavírus, denominada Papillomaviridae, é constituída por vírus de DNA não encapsulados de pequena dimensão muito variados. A identificação dos HPVs é feita por análise completa do seu DNA. A homologia da sequência para a proteína capsídeo L1, que é o gene mais conservado do seu genoma, vai determinar a classificação por tipos (genótipos) (de Villiers *et al.*, 2004). Já foram sequenciados mais de 120 genótipos de HPV na espécie humana (de Villiers e Gunst, 2009). Estes genótipos são divididos em genótipo de alto ou baixo risco de acordo com as suas consequências no tecido infectado, nomeadamente o desenvolvimento de neoplasias (Pista *et al.*, 2011a).

O virião de HPV é formado por um genoma de DNA de cadeia dupla circular (perto de 8000 pares de bases), apresentando um diâmetro de cerca de 55 nm. Este genoma codifica 8 a 10 proteínas, E1, E2, E4-7, proteínas não estruturais para replicação, transcrição e transformação, e L1 e L2 que formam o capsídeo. Ainda se desconhece a função dos genes E3 e E8, os quais não estão presentes em todos os genótipos de HPV (King *et al.*, 2011). Este vírus infecta células indiferenciadas da camada basal de epitélios mucosos, que se tornam acessíveis após trauma. Posteriormente, o vírus provoca uma desregulação da diferenciação e apoptose celular ao estimular a proliferação celular, síntese de DNA e inibindo os reguladores do ciclo celular. Este mecanismo deve-se à interação da proteínas víricas, especialmente as E6 e E7 (que são oncogénicas) presentes nos genótipos de alto risco, com as proteínas das células do hospedeiro (Doorbar, 2007). A proteína E7 interage com o pRB e a E6 com o p53 (Münger *et al.*, 1989; Werness, Levine e Howley, 1990).

Os genótipos de alto risco apresentam sobre-expressão dos genes E6 e E7 o que conduz a instabilidade genómica e potencial mutacional que podem levar à transformação maligna dos tecidos infectados (Stanley *et al.*, 2007). Pelo contrário, as proteínas dos genótipos de baixo risco demonstram baixa afinidade para as proteínas supressoras tumorais, pelo que terão um reduzido potencial oncogénico e geralmente conduzem a infeções autolimitadas, estando associadas a lesões benignas. Os genótipos de alto risco, associados a infeções persistentes, aumentam o risco neoplásico. Em mulheres com carcinoma do colo do útero já foram identificados 15 genótipos de alto risco (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82), três prováveis (HPV 26, 53 e 66), e 12 de baixo risco (HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54,

61, 70, 72, 81 e 89). O genótipo HPV 16 está associado a cerca de 50% das neoplasias do colo uterino (Muñoz *et al.*, 2004; Schiffman *et al.*, 2005; IARC, 2007, Smith *et al.*, 2007). A oncogenicidade dos genótipos HPV 53 e 66 em humanos é considerada limitada (Bouvard *et al.*, 2009; Ribeiro *et al.*, 2014).

O cancro do colo do útero é, em termos globais, o terceiro mais comum na mulher, levando a cerca de 275 mil mortes todos os anos (Ferlay *et al.*, 2013). Em países em desenvolvimento a prevalência de cancro cervical é significativamente superior à observada em países desenvolvidos, onde existem programas de rastreio que levaram ao declínio na sua incidência e mortalidade (Chattopadhyay, 2011).

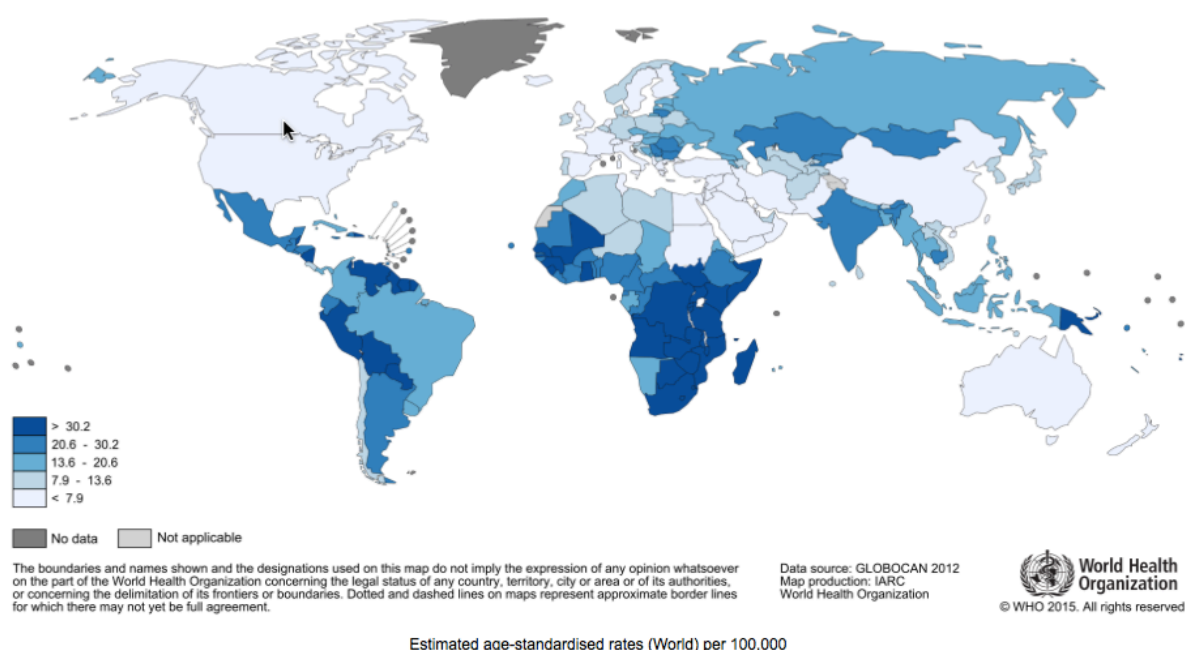


Figura 1 – Estimativa da incidência de carcinoma do colo uterino a nível mundial em 2012 (em <http://globocan.iarc.fr/old/FactSheets/cancers/cervix-new.asp> a 22/03/2016).

Foram, até à data, identificados 10 genótipos de HPV na mucosa oral normal (HPV 2, 6, 7, 11, 13, 16, 18, 31, 33 e 35). Em lesões orais, quer benignas, quer malignas, já foram identificados 24 genótipos (HPV 1, 2, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 13, 16, 18, 31, 32, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 55, 56, 57, 58, 59, 66, 69, 72 e 73) (Syrjänen e Syrjänen, 2000, Kreimer *et al.*, 2005). Ou seja, destes, 13 são considerados de alto risco ou provável alto risco para carcinoma do colo do útero.

Por via de meta-análise tem vindo a ser demonstrada a associação entre a infeção por HPV e o risco aumentado de carcinoma espinocelular oral, especialmente para o genótipo HPV 16 (Miller e Jonhstone, 2001; Syrjänen *et al.*, 2011). A associação entre o HPV e várias neoplasias orofaríngeas, especialmente a amigdalina está descrita (Mellin *et al.*, 2000; D'Souza *et al.*, 2007; Adelstein *et al.*, 2009; Ang *et al.*, 2010). O HPV 16 é descrito como o genótipo mais

prevalente no carcinoma espinocelular oral, seguido pelo HPV 18 (Kreimer *et al.*, 2005; Aldenstein *et al.*, 2009).

Nielsen *et al.* (1996) descreveram uma prevalência de 40,8% de HPV em lesões pré-malignas orais, não tendo detectado o vírus em mucosa normal. Descreveram ainda que todos os doentes que vieram a desenvolver neoplasia oral eram HPV positivos.

Os carcinomas espinocelulares orofaríngeos HPV-positivos são geneticamente diferentes dos restantes: em termos de perda de heterozigotia (Braakhuis *et al.*, 2004), anomalias cromossómicas (Smeets *et al.*, 2006; Klussman *et al.*, 2009) e perfil genético (Martinez *et al.*, 2007). Adicionalmente, este subgrupo de tumores está menos relacionados com determinantes de mau prognóstico, como mutações de p53 (Westra *et al.*, 2008) e expressão do factor de crescimento epidérmico (Kumar *et al.*, 2008). No entanto, não existe um mecanismo que explique as melhores respostas à quimio e radioterapia (Fakhry *et al.*, 2008).

Os genótipos que pertencem ao grupo 1 de “carcinogéneos para humanos”, segundo a IARC (International Agency for Research on Cancer), são os HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 e 59 (Bouvard *et al.*, 2009). Estes são os mais frequentemente encontrados na população feminina, sendo responsáveis por 70% das infeções em mulheres com citologia normal (Bruni *et al.*, 2010).

Na mulher, mais de 50% das neoplasias associadas a infeções são devidas ao HPV. No homem este valor ronda os 4,3% (zur Hausen, 2009). Cerca de 70% dos adultos sexualmente ativos serão infectados por HPV durante a vida. A maioria das infeções são assintomáticas e eliminadas espontaneamente (Pista *et al.*, 2011a).

Com este trabalho pretende-se descrever a epidemiologia da infeção por HPV em Portugal, relacionada com os carcinomas do colo uterino e da cabeça e pescoço.

## MÉTODOS

Esta revisão bibliográfica foi realizada por pesquisa na base de dados Pubmed/Medline, sendo recolhidas todas as publicações, sem limitações temporais, escritas nos idiomas Inglês e Português. O último levantamento foi a 9 de Outubro de 2015.

Foram conduzidas duas pesquisas usando os seguintes grupos de palavras chave: “HPV” E “Portugal” (em todos os campos); “Cancer” E “Head” E “Neck” E “Epidemiology” E “Portugal” (em todos os campos).

Foi realizada a leitura de título e resumo de todos os artigos levantados, de forma a seleccionar os relevantes para esta análise: tipo de estudo (exclusão de case reports), população estudada (população residente em Portugal continental e ilhas), estudos sobre lesões do colo uterino e neoplasias da cabeça e pescoço, estudos em que foi realizada testagem de presença de HPV. Foram excluídos estudos sobre mecanismos genéticos de carcinogénese, rastreio do cancro do colo uterino, formulação da vacina contra o HPV, prognóstico e ainda aqueles que se debruçassem exclusivamente sobre outros factores de risco que não o HPV.

Foram ainda incluídas as referências dos artigos seleccionados para revisão no sentido de identificar estudos adicionais relevantes.

## RESULTADOS

As pesquisas de literatura conduziram ao levantamento de 157 artigos, dos quais foram seleccionados 30 para leitura do texto completo e revisão (Figura 2). Foi realizada a exclusão de artigos segundo os seguintes critérios: 1) artigos sobre mecanismos genéticos (n=29), 2) artigos sobre rastreio de neoplasias do colo uterino (n= 8), 3) artigos sobre outros factores de risco neoplásico (n= 7), 4) artigos sobre o prognóstico (n= 3), 5) outra população (n=4), 6) case report (n=3), 7) artigo sobre a fórmula da vacina (n=1), 8) artigo em Polaco (n=1), 9) não relacionados com as questões levantadas (n=71).

Via lista de referencias bibliográficas foram obtidas 77 publicações adicionais.

Foram consultados os websites da Organização Mundial de Saúde (<http://globocan.iarc.fr>), do European Network of Cancer Registries (IARC) (<http://encr.eu>) e do Grupo de Registos e de Epidemiologia nos países de Língua Latina (GRELL) (<http://www.grell-network.org>).

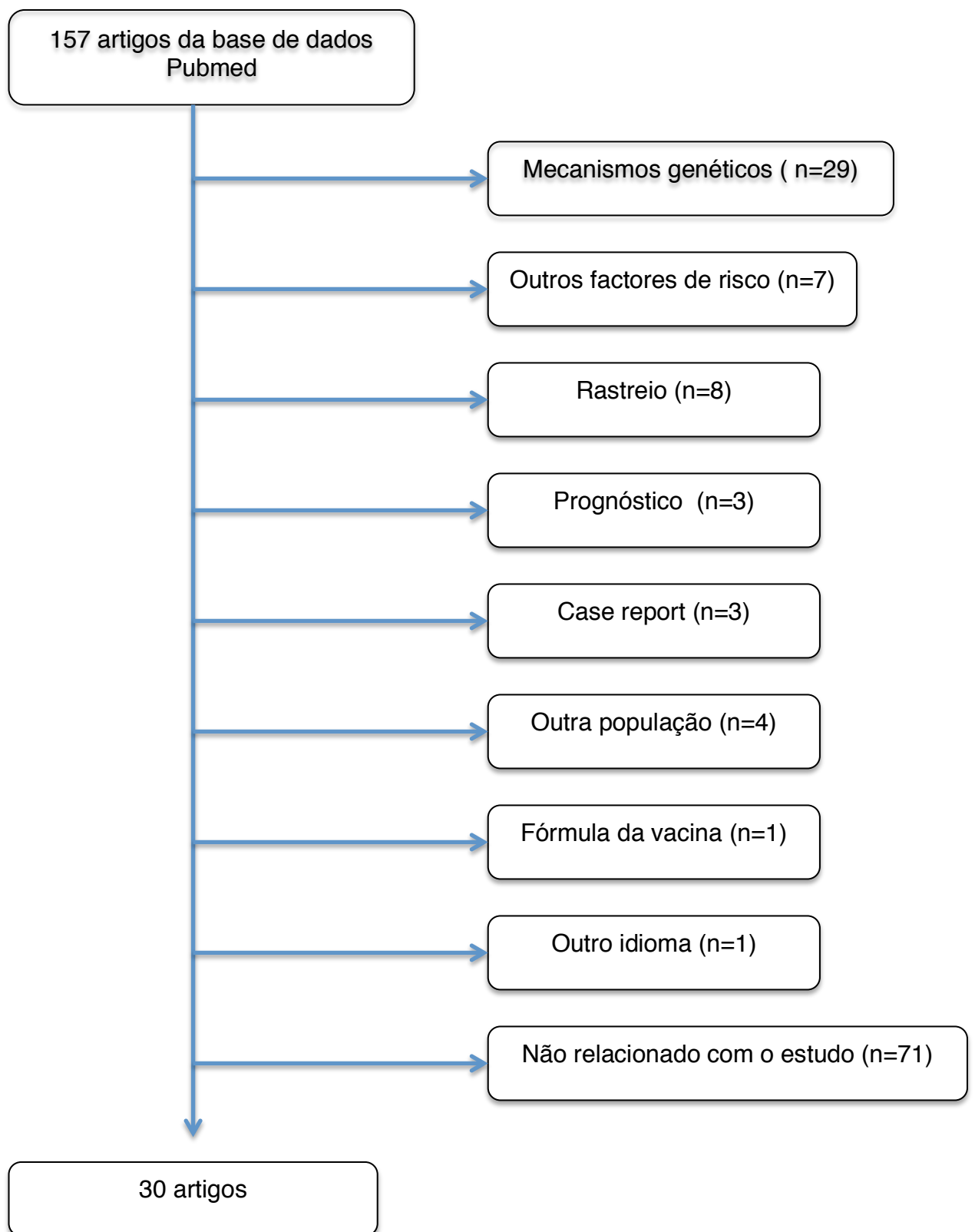


Figura 2 – Fluxograma da aplicação dos critérios de inclusão/exclusão.



## DISCUSSÃO

O papilomavírus humano (HPV) é responsável por múltiplas patologias desde verrugas genitais, neoplasias cervical, vulvar, vaginal, anal e do pênis, neoplasias da cabeça e pescoço e papilomatose respiratória recorrente (Pista *et al.*, 2011a).

Portugal apresenta uma incidência relativamente elevada de cancro cervical e uma das maiores mortalidades da União Europeia (Ferlay *et al.*, 2013). Os genótipos de alto risco 16 e 18 são responsáveis por cerca de 75% das neoplasias cervicais uterinas, e os de baixo risco 6 e 11 por mais de 90% das verrugas genitais (Smith *et al.*, 2007; de Vuyst *et al.*, 2009).

Já vários autores discutiram a importância de integração vírica como indicador de progressão para malignidade (Pett e Coleman, 2007; Ramanakumar *et al.*, 2010), igualmente, Ribeiro *et al.*, 2014, descreveram que a integração de DNA de HPV 16 é comum para a maioria dos tipos de lesão do colo uterino nas mulheres Portuguesas. A integração será provavelmente um evento precoce na carcinogénese cervical uma vez que é encontrada em lesões de baixo grau (Ho *et al.*, 2006).

O objectivo dos estudos CLEOPATRE (Cervical Lesions Observed by Papillomavirus Types – A Research in Europe) é descrever a epidemiologia do HPV na Europa (Pista *et al.*, 2013).

Em Portugal continental foram estudadas 2326 mulheres não vacinadas com idades compreendidas entre os 18 e 64 anos no âmbito do estudo CLEOPATRE. A prevalência global de infeção por HPV foi de 19,4%, sendo superior nas faixas etárias de 18-19 anos e 20-24 anos (27% e 28,8%, respectivamente). Esta maior prevalência em mulheres com menos de 25 anos está de acordo com outros estudos (Smith *et al.*, 2008). A extrapolação dos resultados deste estudo para a população do país estima uma prevalência de 12,7% no intervalo etário em estudo (Pista *et al.*, 2011a).

De entre as mulheres com teste positivo para HPV foi detectado um genótipo de alto risco em 76,5%, sendo o mais frequente o 16 (seguido dos 31, 53, 51, 66, 52, 58, 59 e 18, em ordem decrescente). A prevalência global de HPV 16 foi de 3,8%. Em Portugal, o HPV 16 é o genótipo mais frequente encontrado de acordo com o grau citológico (19,7%) e o HPV 18 apresenta uma baixa prevalência (4,4%) (Pista *et al.*, 2011a).

Pista *et al.*, 2011a, descrevem que 16,5% das mulheres com citologia cervical normal são portadoras de HPV. De entre as mulheres com uma citologia com diagnóstico de LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesion) a prevalência de HPV foi de 81,1%. A prevalência encontrada aumenta com a gravidade do diagnóstico, sendo de 100% quando este foi de HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesion) e ASC-H (atypical squamous cells where HSIL

cannot be excluded). Foi encontrada associação significativa entre infecção com genótipos de alto risco e citologias não normais (Pista *et al.*, 2011a).

Em 7,1% das mulheres estudadas foram encontrados múltiplos genótipos. De entre as mulheres positivas a prevalência de infecção múltipla foi superior nos grupos etários de 60 a 64 anos e de 20 a 24 anos (Pista *et al.*, 2011a).

Em 2013, Pista *et al.* publicaram um artigo no qual descrevem a realização de estudo histológico e genotipagem, em peças de biopsia ou histerectomia, com lesões já diagnosticadas. O tipo histológico encontrado mais frequentemente foi CIN 3 (seguido de: CIN (cervical intra-epithelial lesion) 2, carcinoma espinocelular, adenocarcinoma) (Pista *et al.*, 2013).

Nestas peças foram identificados 26 genótipos, dos quais os 8 mais frequente foram: 16 (58,4%), 31 (10,4%), 33 (8,1%), 58 (7,7%), 52 (5,1%), 18 (3,5%), 51 (3,5%) e 35 (3,3%). Sendo estes os 8 tipos descritos como mais frequentes também noutros estudos. De entre os genótipos de baixo risco o mais frequente foi o HPV 6 (0,7%). Em ICC (invasive cervical cancer), o HPV 16 foi o genótipo mais frequentemente encontrado, seguido pelo 33, 18, 58, 45, 53, 73, 31, 51, 52, 56 e 59 (em ordem decrescente). Os autores descrevem ainda a detecção de infeções múltiplas em 11,2% das amostras, sendo o genótipo mais frequente o 16, seguido do 33 (Pista *et al.*, 2013).

A idade média das mulheres com ICC com infecção por um só genótipo de HPV foi de 50,6 anos para o HPV 16 e 49,3 anos para o 18, que são inferiores à idade média para outros genótipos de alto risco em infecção única (60,9 anos) (Pista *et al.*, 2013).

Neste estudo foi também encontrada associação entre ICC e maior número de gravidezes e partos, assim como de CIN 3 com o uso de contraceptivos orais e de CIN 2 com tabagismo e história de doença sexualmente transmissível (Pista *et al.*, 2013).

Foram estudadas amostras citológicas em meio líquido e amostras em parafina, provenientes de mulheres seguidas no IPO (Instituto Português de Oncologia) de Coimbra, tendo sido detectado HPV em 15,6% das amostras normais, em 23,5% das diagnosticadas como ASC-US (atypical squamous cells of undetermined significance), 52,8% em LSIL, 82,4% em HSIL e em 100% dos carcinomas. A infecção foi mais frequente em mulheres com menos de 40 anos, o que vai de encontro ao descrito noutros estudos (Nobre *et al.*, 2010).

Nesta mesma amostra, foi encontrada infecção múltipla em 11,8% das amostras de mulheres infectadas, estando este tipo de infeções fortemente relacionada com lesões de baixo grau (Nobre *et al.*, 2010).

O HPV 16 foi o genótipo mais prevalente (33,8% das mulheres infectadas), seguido do 58 (9,2%), 33 (7%), 18 (6,3%) (só em prevalências inferiores os HPV 53, 31, 56, 6, 66, 81). Igualmente nas lesões de alto grau o genótipo mais prevalente foi o HPV 16 (35,5%) (seguido por 58, 31 e 18) (Nobre *et al.*, 2010).

No âmbito do estudo CLEOPATRE foram definidos como factores de risco de infeção por HPV a idade jovem, assim como local de nascimento fora de Portugal continental (países africanos lusófonos, Brasil e países da Europa de leste), educação até ao nível secundário e tabagismo. No entanto, neste estudo, mulheres que fumavam há mais de 10 anos demonstraram um risco inferior. Foi ainda demonstrada correlação com o facto de o parceiro sexual ser circuncidado. Mulheres com 5 a 10 parceiros sexuais demonstraram 5 vezes maior risco de infeção do que mulheres com um só parceiro sexual durante a vida (Pista *et al.*, 2007a).

Também no estudo de 2007a, Pista *et al.* não encontraram em Portugal um segundo pico de prevalência aumentada, à semelhança de outros estudos europeus (Pista *et al.*, 2007a).

Em amostras provenientes de mulheres residentes na grande Lisboa e Sul de Portugal, colhidas no âmbito de rastreio de cancro do colo uterino, foram as variantes europeias de HPV 16 as mais frequentemente encontradas (74,3%). A idade média das mulheres infectadas com variantes não europeias foi inferior (38 anos), quando comparada com as infectadas com variantes europeias (43 anos) (Pista *et al.*, 2007b).

A variante europeia demonstrou uma frequência menor no cancro do colo do útero, quando comparada com variantes não europeias, sugerindo um menor risco de progressão para estadios invasivos. Das não europeias só a variante africana se mostrou significativamente associada a aumento de risco de neoplasia do colo uterino. A frequência de variantes africanas foi superior em Portugal (44,4%) do que a descrita noutros países, e significativamente associada a aumento do risco para neoplasia cervical (Pista *et al.*, 2007b).

Quanto ao HPV 18 foram encontradas variantes europeias e africanas em igual prevalência, com um padrão de distribuição de idades semelhante ao de HPV 16 (Pista *et al.*, 2007b).

A distribuição diferencial pode explicar em parte o largo espectro de patologias e a alta prevalência de cancro do colo do útero em alguns países. Nomeadamente, a maior incidência de cancro do colo do útero em África e em países Latinos associada a variantes de HPV 16 diferentes (Pista *et al.*, 2007b).

Este estudo não demonstrou correlação entre a distribuição das variantes de HPV 16 e 18 com idade ou raça entre mulheres residentes na mesma região geográfica (Lisboa e Sul de Portugal continental) (Pista *et al.*, 2007b).

Ribeiro *et al.*, 2014, utilizaram amostras de 88 mulheres, do norte de Portugal, com história de cancro (IPO, Porto) para análise de infeção por HPV. A frequência de infeção foi de 69,3%, sendo mais comum em mulheres com menos de 35 anos. 51,3% das mulheres sem lesões clínicas tiveram um resultado positivo, o que é superior ao encontrado em outros estudos. Isto pode dever-se ao facto de serem mulheres com história prévia de cancro. A análise revelou forte associação entre infeção por HPV e o desenvolvimento de lesões intraepiteliais cervicais, incluindo ICC. Foi ainda estudada a integração do DNA de HPV, o qual estava integrado em 31,6% das amostras positivas (Ribeiro *et al.*, 2014).

Os genótipos mais frequentemente encontrados foram os de alto risco. O HPV 16 foi o mais frequente em infeção única, seguido pelo 31 e 58, o que está de acordo com outros estudos (HPV 16 e 31 serem os mais frequentes na população portuguesa). As infeções múltiplas foram raras (4,1%) (Ribeiro *et al.*, 2014).

Como se pensa que outras infeções de transmissão sexual possam potenciar o efeito carcinogénico da infeção por HPV (Johnsen *et al.*, 2011), foram estudadas 89 amostras de citologias de mulheres do norte de Portugal para detecção de EBV (vírus Epstein-Barr) e CMV (citomegalovírus). Este estudo revelou uma prevalência de 10,1% de EBV, com uma distribuição constante em todas as faixas etárias e em todo o tipo de amostras cervicais, não demonstrando associação com lesões cervicais (Marinho-Dias *et al.*, 2013).

A prevalência de CMV foi de 4,5%, sendo encontrado em mulheres com menos de 30 anos ou com mais de 60 e estava correlacionado com o desenvolvimento de carcinomas (insignificante estatisticamente) (Marinho-Dias *et al.*, 2013).

É comum encontrar infeções concomitantes com múltiplos genótipos de HPV especialmente em mulheres jovens e em mulheres com múltiplos parceiros sexuais (Vaccarella *et al.*, 2010).

No estudo de Beca *et al.*, de 2014, foram usadas amostras de citologia cervico-vaginal em meio líquido de um hospital do norte de Portugal, sendo seleccionadas as diagnosticadas como HSIL. Nestas o genótipo de HPV mais prevalente foi o HPV 16 encontrado em 48,86% das doentes, seguido do HPV 31 em 14,20%. O HPV 18 só foi encontrado em 9 doentes (5,11%). Em 63,07% a infeção era única, e em nenhuma era um genótipo de baixo risco (Beca *et al.*, 2014).

Foram encontradas infeções múltiplas em 36,93%, sendo encontrados em média 2,74 genótipos de HPV por doente, com um máximo de 8 genótipos diferentes em uma delas. A combinação mais frequente foi de HPV 16 com HPV 51 (12,31%), seguido de HPV 16 com o genótipo de baixo risco HPV 42 (10,77%). A combinação do genótipo 16 com o 18 foi

encontrada em 4,62% das doentes com infeção múltipla. As doentes com infeção múltipla eram mais jovens do que as com infeção única (em média  $3,53 \pm 1,58$  anos) (Beca *et al.*, 2014).

Este estudo encontra uma percentagem mais elevada de coinfeções do que outros estudos, possivelmente porque foi usada uma população restrita, especialmente considerando que a prevalência de genótipos de alto risco aumenta com a gravidade do resultado citológico (Beca *et al.*, 2014).

O HPV 45 é um genótipo frequentemente encontrado em lesões de alto grau e carcinoma invasivo (de Sanjose *et al.*, 2010), mas não foi frequente nesta população (Beca *et al.*, 2014).

Cerca de metade das mulheres com lesões de alto grau não estavam infectadas com genótipo 16 ou 18, os genótipos de alto risco cobertos pela vacina atualmente em utilização, o que reforça importância da continuidade dos programas de rastreio (Beca *et al.*, 2014).

Em um outro estudo de amostras com anomalias citológicas, provenientes de mulheres do sul de Portugal, os genótipos de alto risco foram os mais frequentemente detectados, sendo o HPV 16 o mais frequente, seguido de 31, 53, 66, 58 e 51. Também nesta população se verificou que as mulheres com infeções múltiplas eram mais jovens (Pista *et al.*, 2011b).

De entre carcinomas vulvares, o HPV foi detectado em 75-100% dos carcinomas espinocelulares verrucosos e basaloides e em menos de 25% dos queratinizantes, o que reflecte uma possível carcinogénese diferente (Ferreira *et al.*, 2008).

O carcinoma vaginal primário é uma neoplasia rara, sendo o carcinoma espinocelular invasivo o tipo mais comum. Foram estudadas amostras de carcinoma espinocelular invasivo vaginal primário, provenientes de 21 mulheres da região da grande Lisboa, não tendo sido encontrada correlação entre a presença de HPV e o subtipo histológico. Foram encontrados os seguintes genótipos de HPV: 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 40 e 58. O mais prevalente foi o HPV 16. Na maioria das amostras (76%) foi encontrado um genótipo de alto risco, e foram encontrados múltiplos genótipos em 19% (Ferreira *et al.*, 2008).

Este estudo sugere a ocorrência deste tipo de neoplasias em dois tipos de doentes: idosas (idade média 73,8 anos), que apresentam o tipo queratinizante, e mais jovens (idade média 61,5 anos) que apresentam os tipos não queratinizantes. Descreve ainda os primeiros casos de carcinoma espinocelular vaginal associados aos HPV 31, 33, 35, 40 e 58, dos quais só o HPV 40 é de baixo risco (encontrou-se sempre em co-infeção com genótipo de alto risco) (Ferreira *et al.*, 2008).

Foram analisadas amostras citológicas cervico-vaginais de 435 estudantes adolescentes e mulheres jovens (14 a 30 anos de idade) de escolas secundárias e universidades do Norte de

Portugal, colhidas pelas próprias. A frequência global encontrada de infeção por HPV foi de 11,5%, sendo a frequência de 16,6% quando só foram consideradas mulheres sexualmente ativas. Neste estudo o genótipo mais frequente foi o HPV 31 (15,2%) seguido pelo 16 (13,0%), 53 e 61 (8,7%). O maior risco de infeção estava correlacionado com o facto de ter mais do que um parceiro sexual e ter iniciado a atividade sexual há mais de 2 anos (Silva *et al.*, 2011).

Em um outro estudo foram usadas amostras colhidas entre 1990 e 1994 de mulheres na região Centro de Portugal (referidas para IPO, Coimbra), com anomalias citológicas. No total das lesões foi detectada uma prevalência de infeção HPV de 97,8%, sendo o HPV 16 foi mais prevalente, presente em 31,3% das lesões diagnosticadas como HSIL. O HPV 18 foi detectado em 17,1% das lesões HSIL. Os genótipos 31, 33 e 51 apresentavam-se em terceiro lugar de frequência em HSIL (10,3% cada) Os genótipos de baixo risco 6 e 11 foram detectados em 83,3% das lesões de baixo grau (LSIL) e foi detectada infeção múltipla em 10,4% das amostras (Serra *et al.*, 2000).

Em 2005, Medeiros *et al.* caracterizaram os genótipos de HPV em lesões intra-epiteliais escamosas (SIL- squamous intraepithelial lesions) e em ICC, de doentes tratados nos IPO do Porto e Coimbra. Verificou-se uma frequência de HPV 16 de 44,2% em CIN 1, 59,3% em CIN 2, 77,3% em CIN 3/CIS e de 80,0% em ICC. (CIN 1 – displasia ligeira; CIN 2 – displasia moderada; CIN 3/CIS – displasia grave/carcinoma in situ). Para o HPV 18 a frequência foi de 3,1% para CIN 1, 4,5% em CIN 2, não foi detectado em CIN 3/CIS e de 15% em ICC (Medeiros *et al.*, 2005).

Foi demonstrada uma elevada prevalência de HPV 16 em todas as lesões do colo uterino, verificando-se um aumento significativo da prevalência com o aumento da gravidade da lesão. Verificou-se que a razão HPV 18/HPV 16 era significativamente maior em ICC (Medeiros *et al.*, 2005).

A prevalência de HPV 18 foi inferior em HSIL do que em LSIL. É possível que tal se deva a uma rápida progressão das lesões positivas para HPV 18, as quais poderão progredir para invasão, sem um longo período pré-invasivo (Medeiros *et al.*, 2005). Também se pensa que as lesões neoplásicas do colo uterino associadas a HPV 18 sejam mais agressivas do que as associadas a outros genótipos (Nobeyama *et al.*, 2004).

Em um estudo em que participaram 289 mulheres com idades entre os 16 e os 31 anos que realizaram o rastreio nos Açores no ano de 2006, foi detectado DNA de HPV em 10,49% (Dutra *et al.*, 2008), o que é concordante com prevalências descritas a nível mundial que variam entre 2 e 44% (Trottier e Franco, 2006). A infeção era única em 86,67% destas e múltipla em 13,33%.

O genótipo mais comum foi o HPV 31 (26,67%), seguido por 16, 51, 53, 70 e 82 (Dutra *et al.*, 2008).

As neoplasias orais continuam a ser uma patologia fatal para muitos doentes, especialmente se detectadas em estádios avançados. De todos os tumores da cabeça e do pescoço 95% são carcinomas espinocelulares. Os principais factores de risco para cancro da cabeça e do pescoço nos países desenvolvidos são o álcool e o tabaco (Albuquerque *et al.*, 2011a; Bagnardi *et al.*, 2001; Merletti *et al.*, 1989). Apesar de o consumo de álcool ter diminuído desde o início do último século, em 2010 Portugal era o décimo primeiro país do mundo com maior consumo de vinho *per capita* (WHO, 2014). Outros factores de risco implicados incluem a infeção por HPV, dieta e factores genéticos (Goldenberg *et al.*, 2004; Sturgis, Wei e Spitz, 2004). Também se estuda a associação com o uso de próteses dentárias, no entanto, Albuquerque *et al.*, 2012, não a detectaram na população Portuguesa.

Em Portugal a incidência de neoplasias orais é elevada em relação à restante Europa, apresentando, os cancros de lábio, orais e faringe, uma incidência de 15,4 por 100000 em 2012 (Ferlay *et al.*, 2013, EUCAN, IARC-WHO), num total de 2082 casos. A incidência de carcinoma da cabeça e do pescoço representa 10% de todos os tumores malignos (Dias e Almeida, 2009), sendo o carcinoma oral o mais comum, e a língua a localização mais frequente.

A mortalidade devida a neoplasias orais cresceu substancialmente desde os anos 50 até finais dos anos 80 na maioria dos países europeus, especialmente para os homens, mas também nas mulheres se assistiu a uma tendência de crescimento (LaVecchia *et al.*, 2004).

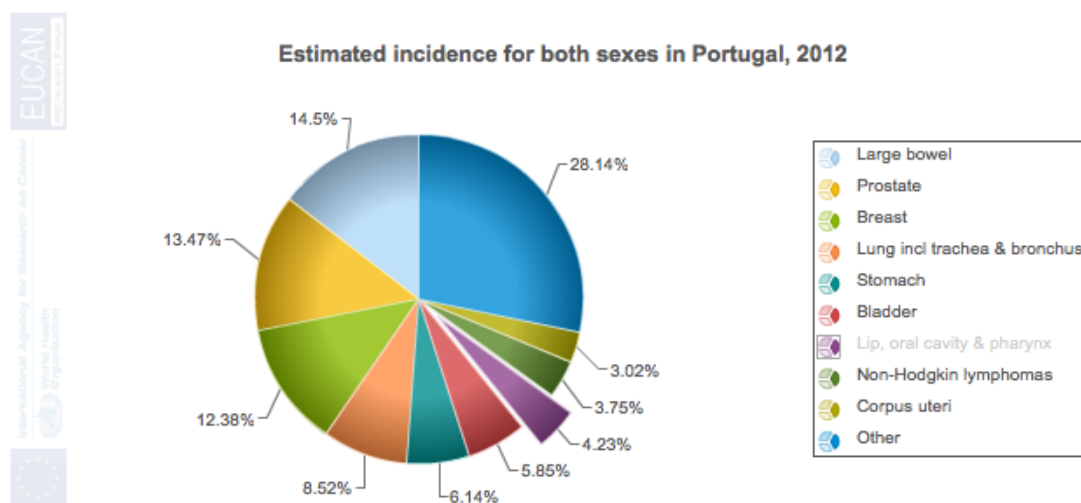


Figura 3 – Incidência estimada de doença neoplásica em Portugal em 2012 (em <http://eco.iarc.fr/eucan>), com realce para neoplasia oral, do lábio e faringe.

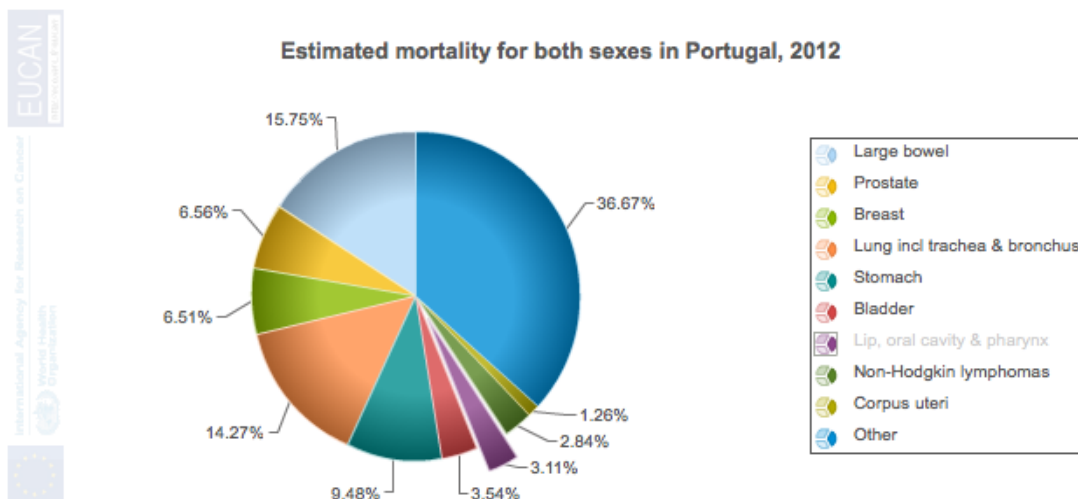


Figura 4 – Mortalidade estimada por causa neoplásica em Portugal em 2012 (em <http://eco.iarc.fr/eucan>), com realce para neoplasia oral, do lábio e faringe.

Num estudo realizado na população residente no Porto, em Portugal, utilizando vários métodos de rastreio, foram detectadas lesões em 3,3% dos indivíduos em estudo. A inspeção visual pelos técnicos do rastreio mostrou-se altamente efetiva na detecção de lesões orais. As lesões foram encontradas maioritariamente em indivíduos mais velhos (> 54 anos), do sexo masculino e baixo nível sócio-económico (Monteiro *et al.*, 2015).

No trabalho de LaVecchia *et al.*, 2004, é descrita uma queda na mortalidade por cancro oral e faríngeo nos homens desde o final dos anos 80, principalmente em países ocidentais como a Itália e principalmente França, que apresentava uma mortalidade especialmente elevada anteriormente. Pelo contrário, foi observado aumento da mortalidade nos homens em Portugal (também Bélgica, Dinamarca e Grécia) (LaVecchia *et al.*, 2004).

Entre as mulheres a mortalidade por cancro oral manteve-se estável ou aumentou ligeiramente, na união Europeia. A mortalidade por cancro oral era substancialmente inferior nas mulheres de meia idade, mas demonstrou uma tendência de crescimento em vários países pelo menos até meados dos anos 90. A taxa de mortalidade mantém-se baixa nas mulheres Europeias, quando comparadas com os homens, nas duas décadas estudadas (1980-1999). No entanto, verifica-se um aumento contínuo na maioria dos países, principalmente em mulheres de meia idade (LaVecchia *et al.*, 2004), o que deverá refletir os padrões de consumo de tabaco e álcool (Levi *et al.*, 2003; Bray, Brennan e Boffetta, 2000).

Ou seja, a incidência global de carcinoma espinocelular da cabeça e do pescoço (OSCC) diminuiu (Karim-Kos *et al.*, 2008), no entanto, a incidência de cancro oral aumentou em indivíduos com menos de 40 anos de idade, sendo a proporção de mulheres mais elevada quando comparada com a população em geral (Llewellyn, Johnson e Warnakulasuriya, 2001).



Em Portugal, pelo contrário, foi observado um aumento significativo na incidência de cancro oral e orofaríngeo num período de 10 anos, entre 1998 e 2007, em ambos os sexos. Isto pode dever-se ao elevado consumo de álcool e tabaco nas últimas décadas, o que segue a tendência de outros países europeus. No entanto, não foi detectado um aumento de incidência entre jovens (Monteiro *et al.*, 2013). Na última década assistiu-se a um aumento da incidência de cancro oral na população Portuguesa em ambos os sexos, mas especialmente entre as mulheres (Monteiro *et al.*, 2014).

De igual forma, numa população do norte do país, os doentes foram maioritariamente homens. No entanto, verificou-se um aumento do número de mulheres e decréscimo de homens (Silveira *et al.*, 2012).

Foi sugerido que a infeção por HPV se relaciona com as apresentações mais precoces de cancro oral (Shiboski, Schmidt e Jordan, 2005; Warnakulasuriya, 2009). No entanto, após a infeção da mucosa oral por HPV de alto risco a transformação maligna pode demorar mais de 20 anos. O comportamento sexual e hábitos sexuais em mudança nas últimas décadas podem estar relacionados com o cancro orofaríngeo (Monteiro *et al.*, 2013). Muitas vezes a detecção de HPV nos tumores orais não é realizada por rotina, provavelmente devido ao elevado custo das técnicas de identificação de DNA de HPV (Monteiro *et al.*, 2014).

A análise da incidência de cancro oral incluindo todos os locais anatómicos pode ser enganadora, uma vez que os factores de risco para uns locais podem ser diferentes dos de outros (por exemplo, língua versus intraoral). No trabalho de Dias e Almeida, 2007, foi descrito que 80% dos cancros orais ocorrem em homens, com uma idade média de 62 anos. A língua e as suas sub-regiões estavam envolvidas em cerca de 43% dos casos. O carcinoma espinocelular foi o tipo mais comum na população estudada da região de Lisboa (Dias e Almeida, 2007).

Igualmente, Monteiro *et al.*, 2014, descrevem a língua como local mais frequentemente afectado (40,6%). Sendo, no total, o cancro oral duas vezes mais frequente em homens do que em mulheres.

A incidência de carcinoma espinocelular aumentou na língua, enquanto se manteve constante ou mesmo diminuiu, noutras regiões orais e faríngeas, especialmente em doentes jovens (Stanko *et al.*, 2007). Foi observado um aumento de cancro na língua na mulher, sobretudo nas com menos de 40 anos e muitas vezes sem história de consumo de álcool e tabaco (Llewellyn, Johnson e Warnakulasuriya, 2001; Garavello, Spreafico e Gaino, 2007).

Em relação ao trauma, a irritação crónica causada por próteses dentárias mal ajustadas, restaurações dentárias partidas ou outros factores de erosão levam a alterações da mucosa,

que em conjunto com outros factores (como álcool e tabaco), podem levar ao desenvolvimento de carcinoma (Bachar *et al.*, 2011).

O carcinoma nasofaríngeo é uma patologia maligna, com incidência muito variável pelo mundo. Foi realizado um estudo em que foram incluídos os casos do IPO do Porto, sendo os carcinomas não queratinizados e os indiferenciados os mais frequentes. Foi observada uma frequência duas vezes superior em homens do que em mulheres, o que vai de encontro ao descrito, e uma média de idade de 49 anos. A incidência em Portugal é semelhante à de outros países ocidentais e à de Espanha e é inferior à de outros países da bacia do mediterrâneo. Os factores de risco conhecidos são a exposição ao vírus de Epstein-Barr, herança genética, contacto continuado com formol e consumo de alimentos que contenham nitrosamina volátil (Breda, Catarino e Medeiros, 2010).

Pensa-se que controlar a infeção por HPV será fundamental para erradicar o cancro do colo do útero. Assim, a vacinação afigura-se uma medida preventiva efetiva que promete reduzir o impacto mundial de cancro cervical no mundo (Franco e Cuzick, 2008). Estudos que caracterizem a infeção por HPV em populações específicas permitem melhorar os programas de rastreio, a abordagem clínica e avaliar o impacto da vacinação (Ribeiro *et al.*, 2014).

A vacinação pode, potencialmente, prevenir uma elevada proporção dos casos de ICC, CIN 3 e CIN 2 em Portugal (Pista *et al.*, 2013). É expectável que a vacinação seja eficaz na prevenção do cancro do colo do útero em Portugal visto que a distribuição de genótipos de alto risco é, em parte, semelhante à descrita mundialmente (Nobre *et al.*, 2010).

O segundo genótipo de alto risco mais comum em termos globais é o 18, que não estava entre os mais frequentes nas populações Portuguesas descritas (Nobre *et al.*, 2010; Pista *et al.*, 2011a; Pista *et al.*, 2011b; Silva *et al.*, 2011; Pista *et al.*, 2013; Beca *et al.*, 2014; Ribeiro *et al.*, 2014). Outros estudos na população portuguesa mostram que este tipo é frequente em cancros invasivos e raro em lesões pré-neoplásicas. O facto de existirem outros genótipos de alto risco que não o HPV 16 e 18 na população portuguesa pode reduzir o impacto da vacinação (Ribeiro *et al.*, 2014).

Assim, reveste-se de maior relevância a proteção cruzada conferida pela vacina bivalente (The GlaxoSmithKline Vaccine HPV-007 Study Group, 2009), sendo fundamental aferir se este fenómeno também ocorre com a vacina quadrivalente, usada no atual plano nacional de vacinação em Portugal. Esta proteção cruzada está documentada para os HPV 31, 33, 45 e 51, descritos como mais prevalentes do que o HPV 18 nas séries descritas no presente texto.

Sendo a infeção por HPV uma infeção de transmissão sexual, a vacinação da população feminina tem o potencial de erradicar a infeção na população feminina e masculina

estritamente heterossexual. Naturalmente, o potencial de infeção mantem-se presente nas relações homossexuais masculinas, assim como o risco de desenvolvimento de neoplasias associadas a este vírus, orofaríngeas e anais, enquanto a população masculina não for vacinada.

Estudos epidemiológicos são fundamentais para o conhecimento do verdadeiro impacto dos tumores de cabeça e pescoço relacionados com a infeção por HPV, em Portugal, para que posteriormente se possa estudar, o real beneficio da vacinação no sexo masculino com o intuito da prevenção destas neoplasias.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adelstein DJ, Ridge JA, Gillison ML, Chaturvedi AK, D'Souza G, Gravitt PE, Westra W, Psyrri A, Kast WM, Koutsky LA, Giuliano A, Krosnick S, Trotti A, Schuller DE, Forastiere A, Ullmann CD (2009). Head and neck squamous cell cancer and the human papillomavirus: summary of a National Cancer Institute State of the Science Meeting, November 9–10, 2008, Washington, D.C. *Head Neck* 31: 1393–1422.

Albuquerque R, López-López J, Marí-Roig A, Jané-Salas E, Roselló-Llabrés X e Santos JR (2011a) Oral tongue squamous cell carcinoma (OTSCC): alcohol and tobacco consumption versus non-consumption. A study in a portuguese population. *Braz Dent J* 22: 517-521.

Albuquerque R, López-López J, Marí-Roig A, Jané-salas E, Chimenos-Küstner E e Santos JR (2011b) Relationship between squamous cell carcinoma of the anterior two thirds of the tongue and removable denture use – a pioneer study in a portuguese population. *Braz Dent J* 22: 410-414.

Albuquerque RP, López-López J, Jané-Salas E, Rosa-Santos J e Ibrahim C (2012) A pioneering epidemiological study investigating the incidence of sqamous cell carcinoma of the tongue in a Portuguese population. *Med Oral Patol Cir Bucal* 17: e550-554.

Ang KK, Harris J, Wheeler R, Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-Tân PF, Westra WH, Chung CH, Jordan RC, Lu C, Kim H, Axelrod R, Silverman CC, Redmond KP, Gillison ML (2010) Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 363: 24–35.

Bachar G, Hod R, Goldstein DP, Irish JC, Gullane PJ, Brown D, Gilbert RW, Hadar T, Feinmesser R e Shpitzer T (2011) Outcome of oral tongue squamous cell carcinoma in patients with and without known risk factors. *Oral Oncol* 47:45-50.

Bagnardi V, Blangiardo M, La Vecchia C e Corrao G (2001) Alcohol consumption and the risk of cancer: a meta-analysis. *Alcohol Res Health*. 25 :263-270.

Bastos J, Peleteiro B, Gouveia, J, Coleman MP e Lunet N (2010) The state of the art of cancer control in 30 European countries in 2008. *Int J cancer* 126: 2700-2715.

Beca F, Pinheiro J, Rios E, Pontes P e Amendoeira I (2014) Genotypes and prevalence of HPV single and multiple concurrent infections in women with HSIL. *Diagn Cytopathol* 42: 919-923.

Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F, Benbrahim-Tallaa L, Guha N, Freeman C, Galichet L, Cogliano V; WHO International Agency for Research on Cancer

Monograph Working Group (2009) A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *Lancet Oncol.* 10: 321-322.

Braakhuis BJ, Snijders PJ, Keune WJ, Meijer CJ, Ruijter-Schippers HJ, Leemans CR, Brakenhoff RH (2004) Genetic patterns in head and neck cancers that contain or lack transcriptionally active human papillomavirus. *J Natl Cancer Inst* 96: 998-1006.

Bray I, Brennan P e Boffetta P (2000) Projections of alcohol- and tobacco-related cancer mortality in central Europe. *Int J Cancer* 87:122–128.

Breda E, Catarino R e Medeiros R (2010) Nasopharyngeal carcinoma in a south European population: epidemiological data and clinical aspects in Portugal. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 267:1607-1612.

Bruni L, Diaz M, Castellsagué X, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjosé S (2010) Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis* 202: 1789–1799.

Centers for Disease Control (CDC) Condyloma acuminatum: United States, 1966 -1981. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 1983;32:306–308.

Curado MP e Hashibe M (2009) Recent changes in the epidemiology of head and neck cancer. *Curr Opin Oncol.* 21:194-200.

de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, Tous S, Felix A, Bravo LE, Shin HR, Vallejos CS, de Ruiz PA, Lima MA, Guimera N, Clavero O, Alejo M, Llombart-Bosch A, Cheng-Yang C, Tatti SA, Kasamatsu E, Iljazovic E, Odida M, Prado R, Seoud M, Grce M, Usubutun A, Jain A, Suarez GA, Lombardi LE, Banjo A, Menéndez C, Domingo EJ, Velasco J, Nessa A, Chichareon SC, Qiao YL, Lerma E, Garland SM, Sasagawa T, Ferrera A, Hammouda D, Mariani L, Pelayo A, Steiner I, Oliva E, Meijer CJ, Al-Jassar WF, Cruz E, Wright TC, Puras A, Llave CL, Tzardi M, Agorastos T, Garcia-Barriola V, Clavel C, Ordi J, Andújar M, Castellsagué X, Sánchez GI, Nowakowski AM, Bornstein J, Muñoz N, Bosch FX; Retrospective International Survey and HPV Time Trends Study Group (2010) Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: A retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol* 11:1048–1056.

de Villiers EM, Gunst K (2009). Characterization of seven novel human papillomavirus types isolated from cutaneous tissue, but also present in mucosal lesions. *J Gen Virol* 90: 1999–2004.

de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H (2004) Classification of papillomaviruses. *Virology.* 324:17–27.

De Vuyst H, Clifford G, Li N e Franceschi S (2009) HPV infection in Europe. *Eur J Cancer* 45: 2632-2639.

Dias GS e Almeida AP (2007) A histological and clinical study on oral cancer: descriptive analyses of 365 cases. *Med Oral Patol Cir Bucal* 12: E474-8.

Doorbar J (2007). Papillomavirus life cycle organization and biomarker selection. *Dis Markers* 23: 297–313.

D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, Westra WH e Gillison ML (2007). Case–control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 356: 1944–1956.

Dutra I, Santos MR, Soares M, Couto AR, Bruges-armas M, Teixeira F, Monjardino L, Hodgson S e Bruges-armas J (2008) Characterisation of human papillomavirus (HPV) genotypes in the Azorean population, Terceira Island. *Infect Agent Cancer* 3:6.

Fakhry C, Westra WH, Li S, Cmelak A, Ridge JA, Pinto H, Forastiere A, Gillison ML (2008) Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *J Natl Cancer Inst* 100:261-269.

Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JWW, Comber H, Forman D, Bray F (2013) Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer* 49:1374-403.

Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F (2013) GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, consultado a 16/01/2013.

Ferreira M, Crespo M, Martins L e Félix A (2008) HPV DNA detection and genotyping in 21 cases of primary invasive squamous cell carcinoma of the vagine. *Mod Pathol* 21: 969-972.

Fidalgo PO, Cravo ML, Chaves PP, Leitão CN e Mira FC (1995) High prevalence of human papillomavirus in sqamous cell carcinoma and matched normal esophageal mucosa: assessment by polymerase chain reaction. *Cancer* 76: 1522-1528.

Garavello W, Spreafico R e Gaini RM (2007) Oral tongue cancer in young patients: a matched analysis. *Oral Oncol* 43:894-897.

Goldenberg D, Lee J, Koch WM, Kim MM, Trink B, Sidransky D e Moon CS (2004) Habitual risk factors for head and neck cancer. *Otolaryngol Head Neck Surg* 131:986-993.

Ho CM, Chien TY, Huang SH, Lee BH, Chang SF (2006) Integrated human papillomavirus types 52 and 58 are infrequently found in cervical cancer, and high viral loads predict risk of cervical cancer. *Gynecol Oncol* 102: 54–60.

IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (2007). Human papillomaviruses. IARC 90: 1– 670.

Karim-Kos HE, de Vries E, Soerjomataram I, Lemmens V, Siesling S e Coebergh JW (2008) Recent trends of cancer in Europe: a combined approach of incidence, survival and mortality for 17 cancer sites since the 1990s. *Eur J Cancer* 44: 1345–1389.

King AMQ, Lefkowitz E, Adams MJ e Carstens EB (2011) Family Papillomaviridae. Em: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier. p 235-248.

Klussman J, Mooren J, Lehnen M, Claessen SM, Stenner M, Huebbers CU, Weissenborn SJ, Wedemeyer I, Preuss SF, Straetmans JM, Manni JJ, Hopman AH, Speel EJ (2009) Genetic signatures of HPV-related and unrelated oropharyngeal carcinoma and their prognostic implications. *Clin Cancer Res* 15:1779-1786.

Kreimer AR, Bhatia RK, Messegue AL, González P, Herrero R, Giuliano AR (2010). Oral human papillomavirus in healthy individuals: a systematic review of the literature. *Sex Transm Dis* 37: 386–391.

Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, Franceschi S (2005). Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14: 467–475.

Kumar B, Cordell KG, Lee JS, Worden FP, Prince ME, Tran HH, Wolf GT, Urba SG, Chepeha DB, Teknos TN, Eisbruch A, Tsien CI, Taylor JM, D'Silva NJ, Yang K, Kurnit DM, Bauer JA, Bradford CR, Carey TE (2008) EGFR, p16, HPV titer, Bcl-xL and p53, sex, and smoking as indicators of response to therapy and survival in oropharyngeal cancer. *J Clin Oncol* 26:3128-3137.

LaVecchia C, Lucchini F, Negri E e Levi F (2004) Trends in oral cancer mortality in Europe. *Oral Oncol* 40: 433-439.

Llewellyn CD, Johnson NW e Warnakulasuriya KA (2001) Risk factors for squamous cell carcinoma of the oral cavity in young people – a comprehensive literature review. *Oral Oncol* 37:401-418.

- Levi F, Lucchini F, Negri E e La Vecchia C (2003) The end of the tobacco-related lung cancer epidemic in Europe. *J Natl Cancer Inst* 95:631–632.
- Marinho-Dias J, Ribeiro J, Monteiro P, Loureiro J, Baldaque I, Medeiros R e Sousa H (2013) Characterization of cytomegalovirus and epstein-barr virus infection in cervical lesions in Portugal. *J Med Virol* 85: 1409-1413.
- Martinez I, Wang J, Hobson KF, Ferris RL, Khan SA (2007) Identification of differentially expressed genes in HPV-positive and HPV-negative oropharyngeal squamous cell carcinomas. *Eur J Cancer* 43:415-432.
- Medeiros R, Prazeres H, Pinto D, Macedo-Pinto I, Lacerda M, Lopes C e Cruz E (2005) Characterization of HPV genotype profile in squamous cervical lesions in Portugal, a Southern European population at risk of cervical cancer. *Eur J Cancer Prev* 14: 467-471.
- Mellin H, Friesland S, Lewensohn R, Dalianis T, Munck-Wikland E (2000). Human papillomavirus (HPV) DNA in tonsillar cancer: clinical correlates, risk of relapse, and survival. *Int J Cancer* 89: 300–304.
- Merletti F, Boffetta P, Ciccone G, Mashberg A e Terracini B (1989) Role of tobacco and alcoholic beverages in the etiology of cancer of the oral cavity/oropharynx in Torino, Italy. *Cancer Res.* 49 :4919-4924.
- Miller CS, Johnstone BM (2001). Human papillomavirus as a risk factor for oral squamous cell carcinoma: a metaanalysis, 1982–1997. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 91: 622–635.
- Monteiro LS, Antunes L, Bento MJ e Warnakulasuriya S (2013) Incidence rates and trends of lip, oral and oro-pharyngeal cancers in Portugal. *J Oral Pathol Med* 42: 345-351.
- Monteiro LS, Amaral JB, Vizcaino JR, Lopes CA e Torres FO (2014) A clinical-pathological and survival study of oral squamous cell carcinomas from a population of the north of Portugal. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 19: e120-6.
- Monteiro LS, Salazar F, Pacheco JJ, Martins M e Warnakulasuriya S (2015) Outcomes of invitation and opportunistic oral cancer screening initiatives in Oporto, Portugal. *J Oral Pathol Med* 44: 145-152.
- Moore SR, Johnson NW, Pierce AM e Wilson DF (2000) The epidemiology of tongue cancer: a review of global incidence. *Oral Dis.* 6:75-84.



Müller S, Pan Y, Li R e Chi AC (2008) Changing trends in oral squamous cell carcinoma with particular reference to young patients: 1971-2006. The Emory University experience. *Head Neck Pathol.* 2:60-66.

Münger K, Werness BA, Dyson N, Phelps WC, Harlow E, Howley PM (1989). Complex formation of human papillomavirus E7 proteins with the retinoblastoma tumor suppressor gene product. *EMBO J* 8: 4099–4105.

Muñoz N, Bosch FX, Castellsague AL X, Díaz M, de Sanjose S, Hammouda D, Shah KV, Meijer CJ (2004). Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective *Int J Cancer* 111: 278– 285.

Napier SS e Speight PM (2008) Natural history of potentially malignant oral lesions and conditions: an overview of the literature. *J Oral Pathol Med.* 37:1-10.

Nielsen H, Norrild B, Vedtofte P, Praetorius F, Reibel J, Holmstrup P (1996). Human papillomavirus in oral premalignant lesions. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 32B: 264–270.

Nobeyama H, Sumi T, Misugi F, et al. (2004). Association of HPV infection with prognosis after neoadjuvant chemotherapy in advanced uterine cervical cancer. *Int J Mol Med* 14: 101–105.

Nobre RJ, Cruz E, Real O, Almeida LP e Martins TC (2010) Characterization of common and rare human papillomaviruses in portuguese women by the polymerase chain reaction, restriction fragment lenght polymorphism and sequencing. *J Med Virol* 82: 1024-1032.

Oliveira AG, Delgado C, Verdasca N e Pista A (2013) Prognostic value of human papillomavirus types 16 and 18 DNA physical status in cervical intraepithelial neoplasia. *Clin Microbiol Infect* 19: E447-E450.

Olsson S-E, Kjaer SK, Sigurdsson K, Iversen OE, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, Perez G, Brown DR, Koutsky LA, Tay EH, García P, Ault KA, Garland SM, Leodolter S, Tang GW, Ferris DG, Paavonen J, Lehtinen M, Steben M, Bosch FX, Dillner J, Joura EA, Majewski S, Muñoz N, Myers ER, Villa LL, Taddeo FJ, Roberts C, Tadesse A, Bryan J, Maansson R, Vuocolo S, Hesley TM, Saah A, Barr E, Haupt RM (2009) Evaluation of quadrivalent HPV 6/11/16/18 vaccine efficacy against cervical and anogenital disease in subjects with serological evidence of prior vaccine type HPV infection. *Hum Vaccin* 5: 694–701.

Petrosky E, Bocchini JA Jr, Hariri S, Chesson H, Curtis CR, Saraiya M, Unger ER, Markowitz LE; Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2015) Use of 9-valent human papillomavirus (HPV) vaccine: updated HPV vaccination recommendations of the advisory committee on immunization practices. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 64: 300-304.

Pett M, e Coleman N (2007) Integration of high-risk human papillomavirus: a key event in cervical carcinogenesis? *J Pathol* 212: 356–367.

Pista A, Oliveira CF, Cunha MJ, Paixao MT e Real O; CLEOPATRE Portugal Study Group (2007a) Risk factors for human papillomavirus infection among women in Portugal: the CLEOPATRE Portugal study. *Int J Gynaecol Obstet* 118: 112-116.

Pista A, Oliveira A, Barateiro A, Costa H, Verdasca N e Paixao MT (2007b) Molecular variants of human papillomavirus type 16 and 18 and risk for cervical neoplasia in Portugal. *J Med Virol* 79: 1889-1897.

Pista A, Oliveira CF, Cunha MJ, Paixao MT e Real O on behalf of the CLEOPATRE Portugal Study Group (2011a) Prevalence of human papillomavirus infection in women in Portugal. *Int J Gynecol Cancer* 21: 1150-1158.

Pista A, Oliveira A, Verdasca N e Ribeiro F (2011b) Single and multiple human papillomavirus infections in cervical abnormalities in Portuguese women. *Clin Microbiol* 17: 941-946.

Pista A, Oliveira CF, Lopes C e Cunha MJ on behalf of the CLEOPATRE Portugal Study Group (2013) Human papillomavirus type distribution in cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3 and cervical cancer in Portugal – a CLEOPATRE II study. *Int J Gynecol Cancer* 23: 500-506.

Ramanakumar AV, Goncalves O, Richardson H, Tellier P, Ferenczy A, Coutlée F e Franco EL (2010) Human papillomavirus (HPV) types 16, 18, 31, 45 DNA loads and HPV-16 integration in persistent and transient infections in young women. *BMC Infect Dis* 10: 326.

Ribeiro J, Teixeira D, Marinho-Dias J, Monteiro P, Loureiro J, Baldaque R e Sousa H (2014) Characterization of human papillomavirus genotypes and HPV – 16 physical status in cervical neoplasias of women from northern Portugal. *Int J Gynaecol Obstet* 125: 107-110.

Santo C, Pista A, Bartolo E, Almeida M, Ayres L, Ferreira P e Rodrigo G (1992) Estudo do tipo de papilomavírus humano (HPV) no aparelho genital feminino e masculino. *Acta Med Port* 5: 567-570.

Schantz SP e Yu G-P (2002) Head and neck cancer incidence trends in young Americans, 1973–1997, with a special analysis for tongue cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 128:268-274.

Schiffman M, Herrero R, Desalle R, Hildesheim A, Wacholder S, Rodriguez AC, Bratti MC, Sherman ME, Morales J, Guillen D, Alfaro M, Hutchinson M, Wright TC, Solomon D, Chen Z,

Schussler J, Castle PE, Burk RD (2005) The carcinogenicity of human papillomavirus types reflects viral evolution. *Virology*. 337: 76-84.

Seiwert TY, Zuo Z, Keck MK, Khattri A, Peadarallu CS, Stricker T, Brown C, Pugh TJ, Stojanov P, Cho J, Lawrence MS, Getz G, Brägelmann J, DeBoer R, Weichselbaum RR, Langerman A, Portugal L, Blair E, Stenson K, Lingen MW, Cohen EEW, Vokes EE, White KP e Hammerman PS (2015) Integrative and comparative genomic analysis of HPV-positive and HPV-negative head and neck squamous cell carcinomas. *Clin Cancer Res* 21: 632-641.

Serra H, Pista A, Figueiredo P, Urbano A, Avilez A e Oliveira CF (2000) Lesões do colo uterino e infecção pelo vírus do papiloma humano (HPV) Detecção e tipificação do ADN/HPV por PCR (reação de amplificação enzimática). *Acta Med Port* 13: 181-192.

Shiboski CH, Schmidt BL e Jordan RC (2005) Tongue and tonsil carcinoma: increasing trends in the U.S. population ages 20– 44 years. *Cancer* 103: 1843–1849.

Silva J, Ribeiro J, Sousa H, Cerqueira F, Teixeira AL, Baldaque I, Osório T e Medeiros R (2011) Oncogenic HPV types infection in adolescents and university women from north Portugal: from self-sampling to cancer prevention. *Journal of Oncology* 8 pp.

Silveira A, Gonçalves J, Sequeira T, Ribeiro C, Carlos L, Monteiro E e Pimentel FL (2012) Oncologia de cabeça e pescoço: enquadramento epidemiológico e clínico na avaliação da qualidade de vida relacionada com a saúde. *Rev Bras Epidemiol* 15: 38-48.

Skinner SR, Szarewski A, Romanowski B, Garland SM, Lazcano-Ponce E, Salmerón J, Rosario-Raymundo MR, Verheijen RHM, Quek SC, Silva DP, Kitchener H, Fong KL, Bouchard C, Money DM, Ilancheran A, Cruickshank ME, Levin MJ, Chatterjee A, Stapleton JT, Martens M, Quint W, David MP, Meric D, Hardt K, Descamps D, Geeraerts B, Struyf F, Dubin G for the VIVIANE Study Group (2014) Efficacy, safety, and immunogenicity of the human papillomavirus 16/18 AS04-adjuvanted vaccine in women older than 25 years: 4-year interim follow-up of the phase 3, double-blind, randomised controlled VIVIANE study. *Lancet* 384: 2213-2227.

Smeets SJ, Braakhuis BJ, Abbas S, Snijders PJ, Ylstra B, van de Wiel MA, Meijer GA, Leemans CR, Brakenhoff RH (2006) Genome-wide DNA copy number alterations in head and neck squamous cell carcinomas with or without oncogene-expressing human papillomavirus. *Oncogene* 25:2558-2564.

Smith JS, Melendy A, Rana RK e Pimenta JM (2008) Age-specific prevalence of infection with human papillomavirus in females: a global review. *J Adolesc Health* 43 S5 - S25.

- Smith JS, Lindsay L, Hoots B, Keys J, Franceschi S, Winer R e Clifford GM (2007) Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int J Cancer*. 121: 621-362.
- Stanko P, Satko I, Czako L, Beno M, Danko J e Zmeko S (2007) Squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Bratisl Lek Listy* 108:292- 296.
- Syrjanen S, Lodi G, von Bultzingslowen I, Aliko A, Arduino P, Campisi G, Challacombe S, Ficarra G, Flaitz C, Zhou HM, Maeda H, Miller C e Jontell M (2011) Human papillomavirus in oral carcinoma and oral potentially malignant disorders: a systematic review. *Oral Dis* 17 (Suppl. 1):58–72.
- Stanley MA, Pett MR, Coleman N (2007). HPV: from infection to cancer. *Biochem Soc Trans* 35: 1456–1460.
- Sturgis EM, Wei Q e Spitz MR (2004) Descriptive epidemiology and risk factors for head and neck cancer. *Semin Oncol* 31:726-733.
- Syrjänen S, Lodi G, von Bültzingslöwen I, Aliko A, Arduino P, Campisi G, Challacombe S, Ficarra G, Flaitz C, Zhou HM, Maeda H, Miller C e Jontell M (2011) Human papillomaviruses in oral carcinoma and oral potentially malignant disorders: a systematic review. *Oral Diseases* 17: 58-72.
- Syrjänen S, Syrjänen K (2000). HPV infections of the oral mucosa, Chapter 17. In: Syrjänen K, Syrjänen S, eds. *Papillomavirus infections in human pathology*. J. Wiley & Sons: New York, pp. 379–412.
- Szarewski A, Poppe WA, Skinner SR, Wheeler CM, Paavonen J, Naud P, Salmeron J, Chow SN, Apter D, Kitchener H, Castellsagué X, Teixeira JC, Hedrick J, Jaisamrarn U, Limson G, Garland S, Romanowski B, Aoki FY, Schwarz TF, Bosch FX, Harper DM, Hardt K, Zahaf T, Descamps D, Struyf F, Lehtinen M, Dubin G; HPV PATRICIA Study Group (2012) Efficacy of the human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine in women aged 15-25 years with and without serological evidence of previous exposure to HPV-16/18. *Int J Cancer* 131: 106–116.
- The GlaxoSmithKline Vaccine HPV-007 Study Group (2009) Sustained efficacy and immunogenicity of the human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine: analysis of a randomized placebo-controlled trial up to 6.4 years. *Lancet* 374: 1975–1985.
- Trottier H e Franco EL (2006) The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine* 24:1-15.

Vaccarella S, Franceschi S, Snijders PJ, Herrero R, Meijer CJ, Plummer M; IARC HPV Prevalence Surveys Study Group (2010) Concurrent infection with multiple human papillomavirus types: Pooled analysis of the IARC HPV Prevalence Surveys. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 19:503–510.

van der Schroeff MP, Baatenburg de Jong RJ (2009) Staging and prognosis in head and neck cancer. *Oral Oncol* 45: 356–360.

Warnakulasuriya S (2009) Causes of oral cancer – an appraisal of controversies. *Br Dent J* 207: 471–475.

Werness BA, Levine AJ e Howley PM (1990) Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* 248: 76-79.

Westra WH, Taube JM, Poeta ML, Begum S, Sidransky D, Koch WM (2008) Inverse relationship between human papillomavirus- 16 infection and disruptive p53 gene mutations in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Cancer Res* 14:366-369.

World Health Organization. Global status report on alcohol and health. WHO Press, Geneva, 2014. pp. 289-296. Disponível em: [http://www.who.int/substance\\_abuse/publications/global\\_alcohol\\_report/en/](http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/en/) (Consultado a 17/01/2016).

zur Hausen H (2009) The search for infectious causes of human cancers: where and why. *Virology*. 392: 1–10.

zur Hausen H (1994). Molecular pathogenesis of cancer of the cervix and its causation by specific human papillomavirus types. *Curr Top Microbiol Immunol* 186: 131–156.

zur Hausen H, de Villiers EM (1994). Human papillomaviruses. *Annu Rev Microbiol* 48: 427–447.

*Your work is going to fill a large part of your life, and the only way to be truly satisfied is to do what you believe is great work. And the only way to do great work is to love what you do. If you haven't found it yet, keep looking. Don't settle. As with all matters of the heart, you'll know when you find it.*

Steve Jobs (1955-2011)